



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA, COMÉRCIO E SERVIÇOS
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº BR 102020013629-1

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: BR 102020013629-1

(22) Data do Depósito: 02/07/2020

(43) Data da Publicação Nacional: 11/01/2022

(51) Classificação Internacional: C09K 11/06.

(52) Classificação CPC: C09K 11/06.

(54) Título: MÉTODO DE PREPARAÇÃO DE CARBON DOTS DA CERA DE PRÓPOLIS VERMELHA DE ALAGOAS E USOS DO MESMO

(73) Titular: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS, Instituição de Ensino e Pesquisa. CGC/CPF: 24464109000148. Endereço: AV. LOURIVAL MELO MOTA, S/N, TABULEIRO DO MARTINS, MACEIÓ, AL, BRASIL(BR), 57072-970, Brasileira

(72) Inventor: LEONARDO SOBREIRA RODRIGUES; LIGIA MARIA MANZINE COSTA; ADRIANA SANTOS RIBEIRO; CAMILA BRAGA DORNELAS; TICIANO GOMES DO NASCIMENTO; JOSEALDO TONHOLO; RODÔLFO ELLESON DOS SANTOS ARRUDA; EMANUELLY CAROLYNE MARQUES DE FARIAS NANES.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 02/07/2020, observadas as condições legais

Expedida em: 10/02/2026

Assinado digitalmente por:

Alexandre Dantas Rodrigues

Diretor de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados

Relatório Descritivo da Patente de Invenção**"MÉTODO DE PREPARAÇÃO DE CARBON DOTS DA CERA DE PRÓPOLIS VERMELHA DE ALAGOAS E USOS DO MESMO"**

[001] A presente invenção trata de um nanomaterial luminescente formado a partir da cera de Própolis Vermelha de Alagoas que apresenta sensibilidade a íons Fe^{3+} , sendo proposta a aplicação na identificação de íons Fe^{3+} em matrizes aquosas.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[002] A busca incessante da comunidade científica por sintetizar materiais que possuam excepcionais propriedades e sejam obtidos de maneira simples e com baixa ou nenhuma toxicidade têm chamado cada vez mais atenção. Nessa perspectiva, os nanomateriais são tidos como promissores materiais com aplicações em diversas áreas de estudo.

[003] Nanomateriais são tidos como materiais estruturados, no qual pelo menos uma de suas dimensões apresenta tamanho em ordem de 100 nm, embora não exista uma definição única para essas nanopartículas. No entanto, muitas de suas propriedades são modificadas quando o material é sintetizado em sua forma nanoestruturada.

[004] Os nanomateriais de dimensão zero chamaram a atenção pela ampla aplicabilidade, incluindo ainda suas interessantes propriedades luminescentes. Devido tal propriedade, sua aplicação ganha destaque nas áreas de bioimagem, detecção de pH, células fotovoltaicas, semicondutor, detecção de metais, entre outras. Como uma nova classe de nanomateriais fluorescentes, os nanomateriais baseados em carbono exibem mérito superior quando comparado aos nanomateriais de dimensão zero.

[005] Os pontos quânticos de carbono são alótropos do carbono descobertos em 2004. Esse nanomaterial é tipicamente conhecido como *carbon dots* (CDs). Tal nomenclatura está relacionada à similaridade com os materiais denominados *quantum dots* (pontos quânticos), que são nanopartículas baseadas em materiais inorgânicos como Selênio, Cádmio, Telúrio, entre outros. Tanto os *carbon dots*, como os *quantum dots*, apresentam o fenômeno de luminescência cuja emissão varia conforme o tamanho da nanopartícula. No entanto, os *carbon dots* são mais vantajosos devido às suas propriedades como a biocompatibilidade, solubilidade em água, baixa toxicidade, foto-estabilidade e fácil processo de obtenção.

[006] O processo de fluorescência dos *carbon dots* ainda não é tão bem consolidado no meio científico, no entanto são propostas algumas visões de como esse processo ocorre: a emissão no estado central, oriunda de cristais perfeitos de carbono com poucos defeitos; emissão no estado de superfície, ocorre por meio da hibridização do carbono e grupos na superfície; e a fluorescência molecular, que é induzida por impurezas moleculares.

[007] O tipo de luminescência que os *carbon dots* podem apresentar pode variar de acordo com a rota sintética utilizada, bem como os reagentes escolhidos para a síntese. Uma diversidade de materiais de partida é relatada na literatura, além da utilização de técnicas específicas do tipo *top-down* e *bottom up*. Dessa forma, a escolha dos reagentes e rota sintética utilizada é de extrema importância, pois visa estabelecer padrões necessários à aplicação desses nanomateriais.

[008] Em relação às patentes sobre síntese e aplicação de *carbon dots* no Brasil, estas ainda não foram relatadas pelo site do INPI. Dessa forma, foi realizada uma vasta pesquisa no site internacional do WIPO no intuito de obter patentes relacionadas com a presente invenção.

[009] A patente com número 201910157718.4 descreve um método para a preparação de pontos quânticos de carbono fluorescente. Para isso foi usado biomassa como precursor e aplicação do ponto quântico de carbono fluorescente, no qual pertence ao campo técnico de preparação de nanomateriais fluorescentes. O método de preparação compreende as seguintes etapas: 1) pesar uma certa quantidade de material de biomassa fresco, cisalhar o material de biomassa fresco para formar pequenos blocos, triturar os pequenos blocos, adicionar água, realizar mistura uniforme, realizar tratamento de ultrassom e retirar o material obtido; 2) misturar um certo volume deste material obtido com etileno diamina, transferir a solução obtida para uma autoclave para que ocorra a reação a solução; e 3) centrifugar a solução obtida em alta velocidade, remover precipitados insolúveis, tomar o sobrenadante obtido, dialisar o sobrenadante em um saco de diálise por 24 h, liofilizar o sobrenadante dialisado para obter o ponto quântico de carbono fluorescente e dissolvê-lo em água ultrapura para obter uma solução aquosa. O método de preparação tem as vantagens, entre elas a matéria-prima facilmente disponível, baixo custo, processo simples, onde o ponto quântico de carbono fluorescente obtido tem boa dispersibilidade, granularidade uniforme e boa estabilidade, pode ser usado para detectar a fosfatase ácida,

e é adequado para imageamento biológico, conversão fotoelétrica e catálise.

[010] A patente 201710079744.0 mostra pontos quânticos de carbono fluorescente com alta estabilidade à luz e boa biocompatibilidade e com grande potencial de aplicação em campos como imagem biológica; os métodos de preparação convencionais para preparação de *carbon dots* são complicados, consomem uma grande quantidade de energia ou precisam de reagentes químicos perigosos, portanto, é difícil preparar *carbon dots* em larga escala, e consequentemente aplicá-los. A invenção fornece um método de preparação verde para *carbon dots*, no intuito de superar as desvantagens acima mencionadas; e o método de preparação verde é bastante simplificado, garante baixa toxicidade e boa biocompatibilidade dos *carbon dots* e permite que esse nanomaterial seja mais aplicável à imagens biológicas. O método de preparação verde compreende as seguintes etapas: (1) preparação de matérias-primas: seleção de matérias-primas ricas em substâncias fenólicas, em que as matérias-primas a granel devem ser pulverizadas e peneiradas; (2) extração das substâncias fenólicas: extração das matérias-primas preparadas com um solvente para obter uma solução das substâncias fenólicas; e (3) separação de pontos de carbono: separar a solução das substâncias fenólicas usando métodos físicos como centrifugação e diálise para obter o líquido de dispersão de pontos de carbono. O líquido de dispersão dos pontos de carbono é submetido a secagem e dispersão com pressão reduzida com solução salina normal ou semelhante antes de ser aplicado à técnica de imagem biológica.

[011] Na patente de número 201910347905.9 a invenção descreve um método de síntese verde de *carbon dots* luminescente com emissão de luz azul. O método de síntese verde compreende as seguintes etapas: a secagem de escamas oriundas de peixes e sua trituração total; pesagem do pó e dissolução em uma solução aquosa; tratamento ultrassônico até que o pó seja completamente dissolvido e formação de uma dispersão aquosa; transferência da dispersão para uma reator hidrotérmico para reação a 150-220 °C por 6-27 h; resfriamento natural até a temperatura ambiente após o término da reação para obter uma solução marrom escura; centrifugação da solução marrom escura obtida para remover substâncias de partículas grandes; filtração por sucção com uma membrana de filtro com um diâmetro de poro de 0,2 µm para obter uma solução de *carbon dots*; evaporação rotativa para obter uma solução concentrada; e liofilização para obter os pontos quânticos de carbono luminescente azul em pó. Os *carbon dots* luminescente com emissão de luz azul preparados na invenção não precisam de purificação e separação e têm um rendimento quântico de fluorescência relativamente alto capaz de atingir 6,9 % em condições ideais; e uma fonte de carbono natural puro é adotada durante a síntese dos *carbon dots*, expandindo assim a aplicação desse nanomaterial em vários campos.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[012] A presente invenção refere-se à produção e obtenção de um nanomaterial luminescente (*carbon dots*) formado a partir da cera de Própolis Vermelha de Alagoas com utilização para identificação de íons Fe^{3+} em matrizes

aquosas. O material resinoso foi obtido do resíduo (cera) do extrato etanólico da Própolis Vermelha de Alagoas.

[013] A flora brasileira é riquíssima em sua diversidade, sendo detentora de uma pluralidade botânica, onde um grande percentual dessas plantas apresenta algum tipo de substância detentora de propriedades farmacológicas. Nesse amplo campo botânico encontra-se a *Dalbergia Ecastophyllum L.*, uma leguminosa proveniente do mangue do estado de Alagoas, no qual foi recentemente encontrada um novo tipo de própolis, denominada "Própolis Vermelha de Alagoas", que revelou uma composição química rica em substâncias bioativas como os isoflavonoides.

[014] O processo de extração desses componentes bioativos se dá muitas vezes por meio do extrato alcóolico da própolis, seguindo do isolamento, identificação e análise das suas potenciais aplicações. No decorrer da extração desses metabólitos secundários é gerado um subproduto (cera) que frequentemente é descartado, não possuindo um valor comercial. Acredita-se que nessa cera ainda existam substâncias bioativas, ésteres, hidrocarbonetos e ácidos graxos, por exemplo. Esses compostos em sua grande maioria são oxigenados, tornando-o propício à síntese de *carbon dots*.

[015] No processo de síntese dos *carbon dots* a estrutura formada em sua superfície depende inteiramente dos compostos de partida utilizados. A importância dos átomos presentes na superfície dos *carbon dots* está diretamente relacionada ao processo de luminescência. Para fins de aplicação, os *carbon dots* altamente oxigenados tornam-se bons candidatos para

detecção de íons Fe^{3+} , visto que esse tipo de átomo se liga facilmente a substâncias nitrogenadas e oxigenadas.

[016] A invenção propões a síntese e aplicação de um nanomaterial luminescente formado por meio de cera da Própolis Vermelha de Alagoas, onde o material apresenta características como a biocompatibilidade, baixa toxicidade, sensibilidade à íons Fe^{3+} , solubilidade em água, resistência ao foto-branqueamento, além de ser um material biodisponível.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[017] A Figura 1 em anexo apresenta o processo de síntese dos *carbon dots* de Própolis Vermelha de Alagoas.

[018] A Figura 2 em anexo apresenta o espectro de emissão dos *carbon dots* com excitação variando de 290-390 nm. Na Figura em detalhe é possível observar o espectro de emissão normalizado, cujo ponto máximo de emissão é em 443 nm.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[019] O desenvolvimento dos *carbon dots* foi obtido por meio do resíduo do extrato etanólico da Própolis Vermelha de Alagoas e foi realizado nas seguintes etapas:

Extração da cera da Própolis Vermelha de Alagoas

[020] A cera foi obtida a partir do processo de obtenção laboratorial de extrato de Própolis Vermelha de Alagoas, no qual a matéria-prima de Própolis Vermelha de Alagoas (50 g) é submetida a extração por maceração com etanol a 70% (200 mL). Este processo foi repetido por 3 vezes.

[021] O resíduo insolúvel resultante da obtenção do extrato etanólico da Própolis Vermelha de Alagoas é uma massa sólida insolúvel na solução hidro-alcoólica, sendo que esta

foi armazenada em recipiente de vidro. Este material é um resíduo do processo de produção da Própolis Vermelha de Alagoas, conhecido como cera, e é geralmente descartado. Neste caso, o material (cera) foi armazenado a temperatura ambiente para posterior utilização.

[022] O resíduo foi previamente seco em estufa (Ethik, modelo 420/D) a 50 °C por 24 h para total evaporação do solvente. Posteriormente o material sólido resinoso foi aquecido (100 °C) pelo método de decocção utilizando água deionizada para extração da cera. O processo foi repetido diversas vezes até a água ficar translúcida.

[023] A cera foi resfriada a temperatura ambiente e o material sólido foi armazenado ao abrigo da luz. Esse material é que será utilizado na próxima etapa do processo.

Síntese dos *carbon dots* a partir de cera da Própolis Vermelha de Alagoas

[024] Foi pesado 3g de cera bruta da Própolis Vermelha de Alagoas e colocada em reator de Teflon juntamente com 30 mL de água deionizada Mili-Q. A reação ocorreu durante 24 h sob temperatura de 180 °C, em estufa (Ethik, modelo 420/D). Logo após, o material foi filtrado, centrifugado a 15000 rpm e filtrado novamente com filtro 0,22 µm. Um sistema nanodisperso resultante foi obtido, aqui chamado de nanomaterial luminescente (*carbon dots*) da cera de Própolis Vermelha de Alagoas, foi armazenado em frasco de vidro a temperatura de 15 °C para posterior aplicação.

Exemplos

[025] A presente invenção trata de um nanomaterial luminescente (*carbon dots* da cera da Própolis Vermelha de Alagoas), com sensibilidade na detecção de íons Fe³⁺ em matrizes aquosas.

[026] A produção dos *carbon dots* da cera da Própolis Vermelha de Alagoas, refere-se a:

[027] I- Obtenção cera bruta de Própolis Vermelha de Alagoas, um sólido resinoso insolúvel recuperado após a etapa de obtenção do extrato etanólico da Própolis Vermelha de Alagoas pelo método de decocção;

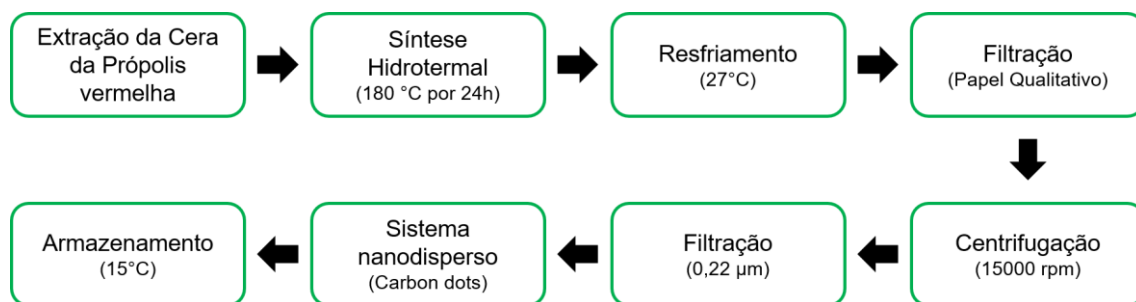
[028] II- Extração e obtenção da cera purificada de Própolis Vermelha de Alagoas a partir do resíduo sólido resinoso insolúvel, obtido a partir da etapa I;

[029] III- Preparação dos *carbon dots* da cera de Própolis Vermelha de Alagoas através do método de síntese verde a partir da cera purificada de Própolis Vermelha de Alagoas (Figura 1), obtido a partir da etapa II;

[030] IV- Obtenção dos *carbon dots* da cera de Própolis Vermelha de Alagoas com emissão máxima na região de 443 nm (Figura 2), obtido a partir da etapa III.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo de obtenção de *carbon dots* da cera de Própolis Vermelha de Alagoas **caracterizado por** compreender as seguintes etapas:
 - (a) submeter 50 g de matéria-prima de própolis vermelha de Alagoas à maceração com etanol a 70% (v/v), na razão de 200 mL de solvente por ciclo, por três repetições consecutivas, para obtenção de um extrato etanólico;
 - (b) separar o resíduo insolúvel resultante da etapa (a), constituído por massa sólida insolúvel na solução hidroalcoólica, armazenando-o em recipiente de vidro como resíduo do processo (cera);
 - (c) armazenar o material (cera) a temperatura ambiente para posterior utilização;
 - (d) secar o resíduo em estufa a 50 °C por 24 h para evaporação total do solvente;
 - (e) aquecer o material sólido resinoso a 100 °C pelo método de decocção utilizando água deionizada para extração da cera, repetindo o processo diversas vezes até a água ficar translúcida;
 - (f) resfriar a cera à temperatura ambiente e armazenar ao abrigo da luz;
 - (g) pesar 3 g de cera bruta de própolis vermelha de Alagoas e colocá-la em reator, juntamente com 30 mL de água deionizada;
 - (h) conduzir a reação por 24 h a 180 °C;
 - (i) filtrar o material, centrifugar a 15.000 rpm e filtrar novamente com filtro de 0,22 µm;
 - (j) obtenção do nanomaterial luminescente (*carbon dots*) da cera de própolis vermelha de Alagoas, armazenado em frasco de vidro a 15 °C para posterior aplicação.
2. Uso de *carbon dots* da cera de Própolis Vermelha de Alagoas, conforme reivindicação 1, **caracterizado pela** determinação de íons Fe³⁺ em matrizes aquosas, com emissão máxima em 443 nm.

DESENHOS**FIG. 1****FIG. 2**